

INVESTIGACIÓN DE *BACILLUS CEREUS* Y CALIDAD SANITARIA DE MUESTRAS DE ARROZ COCIDO RECOLECTADAS EN DIFERENTES ESTABLECIMIENTOS DE LA CIUDAD DE PUEBLA, MÉXICO

RESEARCH OF *BACILLUS CEREUS* AND SANITARY QUALITY IN SAMPLES OF COOKED RICE GATHERED IN DIFFERENT ESTABLISHMENTS OF PUEBLA CITY, MEXICO

Fausto Tejeda-Trujillo^{2*}, Claudy Lorena Villagrán-Padilla¹,
Gloria León-Tello², Mónica Adriana Tejeda-Hernández³

¹Laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos. ²Integrantes del CA-38 en Microbiología. Depto. de Microbiología. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
³Facultad de Ingeniería Química, Ambiental y Alimentos, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. C.U. 14 Sur y San Claudio. Col. San Manuel. Puebla, Puebla, México, C.P. 72570.

*Autor para correspondencia: fausto.tejeda@correo.buap.mx

Fecha de recepción: 29 de marzo de 2013 / Fecha de aceptación: 12 de septiembre de 2013.

RESUMEN

Bacillus cereus es reconocido como un agente patógeno causante de intoxicaciones alimentarias. Se han presentado brotes asociados al consumo de arroz contaminado con esta bacteria. Es uno de los pocos patógenos con capacidad de deteriorar los alimentos. En un brote ocurrido en 1994, en el Estado de Puebla, las personas afectadas manifestaron haber consumido arroz ácido o agrio.

Se determinó la calidad sanitaria de 50 muestras de arroz cocido recolectadas en diferentes establecimientos de la ciudad de Puebla (hogares, fondas, tortillerías y supermercados). El recuento de *B. cereus* se realizó en el agar MYP (manitol, yema de huevo polimixina), los recuentos de bacterias mesofílicas aerobias y bacterias coliformes totales, se realizaron siguiendo la metodología oficial vigente. Se obtuvieron recuentos

elevados de bacterias mesofílicas aerobias (> 10⁶ UFC/g) en el 22 % de las muestras, y en el 44 % se demostró la presencia de bacterias coliformes totales. En el 10 % de las muestras se recuperó *B. cereus*. Aun en cifras muy por debajo de las consideradas como un riesgo para la salud, si se almacena en condiciones de abuso de temperatura, como suele ocurrir en los sitios muestreados el arroz contaminado puede

representar un riesgo a la salud del consumidor.

PALABRAS CLAVE:

Bacillus cereus, arroz cocido, enfermedad transmisible por alimentos, intoxicación alimentaria, enfermedad emética.

ABSTRACT

Bacillus cereus is recognized as a pathogenic agent causative of food poisonings. There have been outbreaks associated

**Figura 1.**

Muestras de arroz cocido.
Figure 1. Cooked rice samples.

with the consumption of rice contaminated with this bacterium. It is one of the few pathogens with capacity to spoil the food. An outbreak occurred in 1994, in the state of Puebla, México, people infected claimed to have consumed "acid rice". The sanitary quality was determined on 50 samples of cooked rice gathered in different establishments of the Puebla, City (homes, diners, tortilla shops and supermarkets). The count of *B. cereus* was realized on MYP agar (mannitol-egg yolk-polymyxin B agar), mesophilic aerobic bacteria and coliforms bacteria recounts were performed following the official methodology. Results obtained showed mesophilic aerobic bacteria high counts (> 10⁶ CFU/g) in 22 % of the samples and in 44 % coliforms bacteria presence was demonstrated. In 10 % of the samples *B. cereus* was recuperated. Even with figures considered far below those of health risk, if stored in conditions of temperature abuse, as it often happens in the sampled sites contaminated rice still represents a health risk for the consumer.

KEYWORDS: *Bacillus cereus*, cooked rice, foodborne disease, food poisoning, emetic type of illness.

INTRODUCCIÓN

Bacillus cereus es una bacteria Gram positiva, esporulada, ampliamente distribuida en la naturaleza. Siendo el suelo su principal reservorio. A partir de este, prácticamente puede alcanzar todos los materiales, que a su vez pueden contaminar los alimentos. El hecho de ser una bacteria esporulada, le da persistencia en el medio ambiente (Frazier y Westoff, 2000; Michael y col., 2007). La espora de *B. cereus* es un factor importante en la enfermedad alimentaria, ya que es más hidrófoba que cualquiera de las demás esporas de *Bacillus* spp., lo que le permite adherirse a varios tipos de superficies. Por consiguiente, es difícil eliminarla del material durante la limpieza. Sus esporas también poseen pilis, que están implicados, en la adherencia. Lo que permite que las esporas resistan los procedimientos normales de limpieza y desinfección. La adherencia de las esporas a las células epiteliales, seguida de su germinación y producción de enterotoxinas, puede explicar los periodos de incubación prolongados que se observan en algunos brotes relacionados con alimentos (Patrick y Robert, 2005).

Se ha asociado a intoxicaciones alimentarias desde 1950 por Hauge (Fernández, 2008). En

los Estados Unidos, ha ocasionado 37 brotes de intoxicación alimentaria con 571 casos, entre 1998 y 2002 (Lynch y col., 2006). Los alimentos implicados epidemiológicamente en brotes han sido: carne, leche, verduras, papas, pastas, quesos y arroz cocido. De acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA) (2012), un número superior a un millón de organismos por gramo en alimentos, representa un riesgo potencial a la salud del consumidor. El contacto directo del hombre con esta bacteria es un acontecimiento cotidiano (Fernández, 2008).

La temperatura óptima de desarrollo de *B. cereus* es de 30 °C, con límites de 5 a 50 °C. Su tiempo de generación en arroz cocido es de 26 a 31 min a 30 °C y de 30 a 54 min a 37 °C. Johnson y col. (1983), observaron que la germinación de esporas es más activa en arroz que en caldo soya tripticasa a bajas temperaturas (menor de 15 °C), destacando el inconveniente de extrapolar resultados en medios de cultivo a alimentos. Los tiempos de generación más cortos fueron de 18-27 min a 40 °C. La actividad de agua mínima para desarrollar es de 0.93, en tanto que su pH óptimo es de 7.0, con límites de 4.4 a 9.3. No es una bacteria nutricionalmente exigente, por lo que no es de extrañar que

desarrolle en diversos alimentos (Patrick y Robert, 2005).

Se ha asociado a dos tipos de padecimientos causados por dos distintos metabolitos: la enfermedad diarreaica, causada por una proteína de alto peso molecular y la enfermedad de tipo emético, causada por un péptido termoestable de bajo peso molecular (FDA, 2012). Entre los alimentos involucrados en brotes de enfermedades transmisibles por alimentos (ETA's) destacan: carne, leche, verduras y pescado, que han sido asociados a la enfermedad diarreaica. Entre los alimentos involucrados con la enfermedad emética se encuentran: arroz, papas, pasta y quesos (Michael y col., 2007). La intoxicación alimentaria por *B. cereus* es autolimitada y no requiere tratamiento antimicrobiano, el tratamiento es sintomático y ocasionalmente es necesario rehidratación.

Actualmente, *B. cereus* así como *Clostridium perfringens* aparecen entre los tres primeros lugares de importancia como agentes causantes de toxiinfecciones, en países como Canadá, Estados Unidos y países europeos (Oviedo, 1996).

En nuestro país prácticamente no hay estudios acerca de este microorganismo, probablemente debido a la baja letalidad

de la enfermedad, o al desconocimiento de *B. cereus* como agente etiológico de ETA's.

El objetivo del trabajo fue investigar la presencia de *B. cereus* a partir de muestras de arroz cocido (Figura 1), recolectado en diferentes sitios de la ciudad de Puebla, así como evaluar su calidad sanitaria a través del recuento de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) y bacterias coliformes totales (BCT) (Secretaría de Salud, 1994a).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 50 muestras recolectadas en hogares (17), tortillerías (7), centros comerciales (2) y fondas (24), durante el periodo octubre - diciembre 2009. La recolección de las muestras fue realizada por verificadores de la Subdirección de Regulación Sanitaria de la Secretaría de Salud del Estado de Puebla, y consistió en la recolección de aproximadamente 80 g de muestra, depositada en un frasco estéril, transportada en condiciones de refrigeración (4-8 °C), y analizada en un periodo no mayor a dos horas posterior a su recolección. Los sitios de muestreo también fueron seleccionados por la Dependencia Estatal anteriormente mencionada, a excepción de las muestras provenientes de hogares, que fueron recolectadas por estudiantes, capacitados para tal actividad, del Laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos, de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

La realización de los recuentos, se hizo de acuerdo a las normas oficiales mexicanas

vigentes (Secretaría de Salud, 1994b; 1994c; 1994d), o bien, las citadas en la literatura científica (Tallent y col., 2012). Con base a ello, se pesaron 10 g de la muestra por analizar en una bolsa de plástico estéril Nasco Whirl Pack, USA). Se adicionó un volumen de 90 mL del diluyente de peptona (Becton Dickinson de México, S.A. de C.V. Cuautitlán Izcalli, México) llevado a una temperatura similar a la de la muestra. Se mezcló en Stomacher 400 (Lab System) durante 1 min a velocidad normal, hasta obtener una suspensión completa y homogénea. Se permitió que las partículas grandes sedimenten, y se transfirió la cantidad deseada tomando de las capas superiores de la suspensión. Se realizaron de las diluciones decimales correspondientes, agitando en un Vortex-2 Genie (Scientific industries, Inc.

Bohemia, NY, USA). El recuento de *B. cereus* se realizó sobre el agar MYP (manitol-yema de huevo-polimixina) (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152, USA) por la técnica de extensión en superficie (Figura 2) y las placas fueron incubadas a 30 °C (Incubadora Termolab, México), de acuerdo a lo sugerido por la FDA (2012). El contenido de BMA y BCT se determinó utilizando métodos oficiales vigentes (Secretaría de Salud, 1994b; 1994d), incubando las placas a 35 °C por 48 y 24 h respectivamente (Incubadora Felisa, México).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron cifras mayores de un millón de UFC/g de BMA en el 22 % de las muestras, lo que se puede relacionar con un almacenamiento en condiciones de abuso de temperatura y/o exposición a diferentes fuentes

de contaminación, como sucede en tortillerías, algunos autoservicios e incluso en el hogar. Esta observación tiene como sustento el que se trata de un alimento sometido a tratamiento térmico, lo que origina una disminución en el contenido de BMA. Se considera "almacenamiento en condiciones de abuso de temperatura", cuando los alimentos se conservan entre 15 y 60 °C, que es el rango en que algunas bacterias pueden sobrevivir e incluso desarrollar.

Se ha hecho popular la venta de este producto en tortillerías y autoservicios, observándose que se venden a temperatura ambiente, donde se mantienen así por varias horas, lo que se puede traducir en un factor desencadenante para la aparición de algún brote de intoxicación alimentaria. Veintidós muestras (44 %) contenían BCT, grupo cuya

Figura 2.

Inoculación de la muestra en agar MYP por la técnica de extensión en superficie para el recuento de *Bacillus cereus*.

Figure 2. Spread inoculum over surface of MYP agar, using sterile bent glass streaking rod.



presencia pone de manifiesto malas prácticas higiénicas posteriores a la cocción, ya que se trata de bacterias no termodúricas. En alimentos cocinados, no es importante el número de BCT, ya que son bacterias no termodúricas, y por lo tanto su sola presencia pone de manifiesto malas prácticas higiénicas poscocción. La presencia de BCT fue principalmente en muestras recolectadas en hogares (8), fondas (8), tortillerías (4) y centros comerciales (2). En 5 muestras (3 caseras, 1 tortillería y 1 de un centro comercial) se encontró *B. cereus* en cifras

que van de 5 mil a 15 mil UFC/g. Para poder ocasionar un daño a la salud, *B. cereus* debe recuperarse en un elevado número a partir del alimento involucrado epidemiológicamente, de ahí la necesidad de cuantificar su contenido. El hecho de ser una bacteria esporulada, le da persistencia en el medio ambiente y fácil acceso a prácticamente todo alimento.

Si a esto se agrega un almacenamiento en condiciones de abuso de temperatura, la espora germina activamente el alimento con el consecuente riesgo a la salud del consumidor (Fernán-

dez, 2008), tal como sucedió en el brote ocurrido en Puebla, el 21 de Diciembre de 1994. Se recomienda que este tipo de alimento se mantenga muy caliente o muy frío hasta antes de su consumo (Sector, 2000).

CONCLUSIONES

El elevado contenido de bacterias mesofílicas aerobias y la presencia de bacterias coliformes totales se relaciona con malas prácticas higiénicas durante su almacenamiento.

El 44 % de las muestras presentaron bacterias coliformes totales, lo que indica una contaminación poscocción.

En el 10 % de las muestras se recuperó *B. cereus*, aún en cifras muy por debajo de las consideradas como un riesgo para la salud. Por lo que se recomienda mantener este tipo de alimento muy caliente (arriba de 60 °C) o muy frío (8 °C) hasta antes de su consumo. ||

AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer el apoyo del personal de la Subdirección de Regulación y Fomento Sanitario de la Secretaría de Salud en Puebla, en la recolección de las muestras, en especial a la Q.F.B. Juana Tula Gatica.

REFERENCIAS

- Fernández, E. E. (2008). *Microbiología e Inocuidad Microbiana de los Alimentos*. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro. 131-139 Pp. (FDA) (2012). *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. Food and Drug Administration Second Edition. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. 96-99. 2012. [En línea]. Disponible en: [http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf). Fecha de consulta: 14 de junio de 2013.
- Frazier, W. C y Westoff, D. C. (2000). *Microbiología de los alimentos*. 4ª Edición. España: Ed. Acriba, S. A. 461-475 Pp.
- Johnson, K. M., Nelson, C. L., and Busta, F. F. (1983). Influence of temperature on germination and growth of spores of emetic and diarrheal strains of *Bacillus cereus* in a broth medium and rice. *Journal Food Science*. 48:286-287.
- Lynch, M., Painter, J., Woodruff, R., and Braden, Ch. (2006). Surveillance for foodborne disease outbreaks in United States, 1998-2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report. CDC-USA*. 55(SS10):1-34
- Michael, P. D. Beuchat, L. R., and Doyle, M. P. (2007). *Food microbiology fundamentals frontiers*. 3ª Edition. Washington, D.C.: American Society Microbiology.
- Oviedo, H. P. (1996). Intoxicación alimentaria. *TecnoVet*. 1.
- Patrick, R. M. and Robert, H. Y. (2005). *Manual of clinical microbiology*. 7ª Edition. USA: American Society Microbiology.
- Secretaría de Salud (1994a). Norma Oficial Mexicana 093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>. Fecha de consulta: 17 de junio de 2013.
- Secretaría de Salud (1994b). Norma Oficial Mexicana 092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. Fecha de consulta: 17 de junio de 2013.
- Secretaría de Salud (1994c). Norma Oficial Mexicana 110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. Fecha de consulta: 16 de junio de 2013.
- Secretaría de Salud (1994d). Norma Oficial Mexicana 113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>. Fecha de consulta: 16 de junio de 2013.
- SECTUR (2000). Norma Mexicana NMX-F-605-NORMEX-2000 Programa H. Secretaría de turismo.
- Tallent, S. M., Rhodehamel, E. J., Harmon, S. M., and Reginald, W. B. (2012). *Bacteriological Analytical Manual: Chapter 14. Bacillus cereus*. [En línea]. Disponible en: www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucmo70875.htm. Fecha de consulta: 18 de junio de 2013.